Aus dem Institut für Krebsforschung der Universität

Oxydasestudien I: Das zahlenmäßige Vorkommen von oxydasenegativen Monocyten

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Von

Harry Adams

aus Panama

Tag der Promotion; 21. 12. 1932

Dr. Emil Ebering, Berlin NW 7, Mittelstraße 29.

132

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. H. Gocht

Referenten: Prof. Dr. Hans Hirschfeld
Prof. Dr. v. Bergmann

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Geschichtliches.

Die Einführung von Ehrlichs Indophenolblausynthese in die Hämatologie durch Winkler und der Peroxydasereaktion etwas später durch Kreibich als Klinische- und Forschungsmethoden bedeutet einen großen Fortschritt unserer Kenntnis über das mikrochemische Verhalten, die Morphologie und die Physiologie der Leukocyten. Schultze fand, und die meisten Autoren stimmen mit ihm überein, daß die Erythrocyten und Lymphocyten immer oxydasenegativ sind,[1] während die aus dem myeloischen Gewebe stammenden weißen Blutkörperchen, nämlich die Neutrophilen, die Eosinophilen und vielleicht auch die Mastzellen oxydasepositiv sind. Von den übrigen morphologischen Elementen des Blutes spricht Katsunuma den Blutplättchen einen positiven (labilen) Charakter zu, während der Ausfall der Reaktion bei den Monocyten lange ein Streitpunkt gewesen ist. Schilling und seine Schüler, Schlenner, May, Wallbach etc., halten die Monocyten für im wesentlich negativ, aber alle anderen Hämatologen einschließlich Bloch, Epstein, Hirschfeld, Jagic, Naegeli sind der Meinung, daß sie entweder zu 100 Prozent oder mindestens in der Mehrzahl oxydasepositiv sind. Solche diametral entgegengesetzten Ergebnisse oder vielmehr Meinungen sind wahrscheinlich der Anwendung verschiedener zum Teil unvollkommener Methoden der Darstellung der Oxydasegranula zuzuschreiben.

In letzter Zeit hat man versucht, den quantitativen Ausfall der Oxydasereaktion in den einzelnen Zellen zu verwerten. Zum Beispiel ist Jagic der Ansicht, daß die weißen Blutkörperchen von Patienten, die mit Röntgenbestrahlungen behandelt wurden, eine Verminderung der Menge des nachweisbaren Oxydasefermentes

---

1. Wenn nicht anders bemerkt, schließt der Ausdruck „Oxydase“ nicht nur Oxydase, sondern auch Peroxydase ein.

zeigen, ein Zustand, welchen er mit dem Ausdruck „Oxydaseschwund" zeichnet. Hirschfeld meint, daß dort in Myeloblasten, wo eine schwach positive Reaktion oder selbst eine negative erscheint, es sich nicht um einen Schwund des Fermentes handelt, vielmehr um eine durch die schnelle Fortpflanzung bedingte Unfähigkeit der Zellen Ferment zu entwickeln. Nach Stockinger ist die Menge der Oxydase in den Blutzellen durch Zugabe von Adrenalin oder Thyroxin stark beeinflußbar, sowie durch das Vorhandensein von bestimmten Krankheiten. Auch Nesterow hat den Einfluß der Krankheiten auf die Produktion des Fermentes in den weißen Blutkörperchen erforscht, und das Vorkommen des Fermentes mit dem der Lipoide in Verbindung gebracht. Kurz zusammengefaßt hat man bei der Erforschung des Oxydasefermentes in den morphologischen Elementen des Blutes bei Menschen die folgenden Tatsachen aufgestellt:

1. Alle farblosen Zellen der myeloischen Reihe, mit Ausnahme vielleicht der jüngsten Formen der Myeloblasten, sind regelmäßig oxydasepositiv (Dunn, Fiessinger, Graham, Hirschfeld, Jagic, Katsunuma, Naegeli, Schilling, Schultze etc.).

2. Positiv sind alle Monocyten (Naegeli) oder die Mehrzahl (Bloch, Epstein, Goldmann, Hirschfeld, Lison, Nesterow, Washburn etc.). Tabelle I.

3. Die Erythrocyten, Normoblasten, Lymphocyten, Plasmazellen sind oxydasenegativ (Graham, Hirschfeld, Naegeli, Schilling, Schultze etc.).

4. Der klinische Wert der Oxydasereaktion beruht auf ihrer Fähigkeit, die Zellen der myeloischen Reihe von allen anderen farblosen Zellen im Blute, besonders von den Zellen lymphatischen Ursprungs differenzieren zu können. Daher hat die Reaktion sich bei der Differentialdiagnose der Leukämien bewährt (alle Autoren! Siehe Dunn, Fiessinger, Noel und Roudowska, Graham, Hatiegan, Hirschfeld, Jagic, Marchesini, Naegeli, Nyfeldt, Schilling).

5. Schwankungen in der Menge des Fermentes in Zellen einer Art, z. B. Neutrophilen, durch Darreichung von Adrenalin, Thyroxin etc., oder durch Vorhandensein von Krankheiten, Klimaeinflüssen etc., sind noch nicht sichergestellt (Hoff, Stockinger).

Andere Anwendungen der Oxydasereaktion in der Hämatologie sind diejenigen, die Erklärung der Herkunft und Entwicklung

mancher morphologischer Elemente des Blutes im Körper zu geben versuchen (Winkler, Schultze, Katsunuma).

Einige Forscher haben das Geheimnis des Ursprungs des Oxydasefermentes in den Monocyten zu erforschen versucht. Freifeld und Ginsburg unter Benutzung von Vogelblut, sowohl McJunkin u. a. haben sich für die exogene Herkunft des Fermentes in den Monocyten, wenn nicht in den weißen Blutkörperchen überhaupt, eingesetzt. Sie haben beobachtet, daß oxydasenegative Monocyten oxydasepositiv geworden sind, wenn sie in Kontakt mit oxydasepositiven Zellen gebracht wurden.

Durch Injektion von oxydasereichem Meerettichextrakt in Mäuse ist es Wallbach gelungen, die Intensität der Oxydasereaktion in den weißen Blutkörperchen zu vermehren. Dieses Experiment sollte zeigen, daß der tierische Organismus in der Lage ist, pflanzliche Oxydase aufzunehmen und sie als oxydasepositive Substanz zu erhalten. Aber man könnte glauben, daß Einspritzungen von tierfremder Oxydase in Tieren die oxydasebereitenden Organe reizen würde. Nichtsdestoweniger ist es von Interesse zu notieren, daß Pflanzen eine positivreagierende Substanz besitzen, und es könnte vielleicht von Wert sein, eine vergleichende Untersuchung über die Oxydasereaktion der weißen Bluttkörperchen der Carnivora und der Herbivora anzustellen.

Neuerdings haben Sehrt und Nesterow wichtige Untersuchungen über die Beziehung zwischen Oxydase- und Lipoidkörnelung bzw. toxischen Granulationen in den weißen Blutkörperchen beschrieben. Auf Grund ihrer Beobachtungen sind sie zu dem Schluß gekommen, daß die Lipoid- und Oxydasesubstanzen in einem und demselben Körnchen vorhanden sind.

In ihren zusammenfassenden Arbeiten und ausführlichen Sammelreferaten über die Oxydasereaktion haben Loele (1912), Graeff (1923) und Katsunuma (1924) die grundlegenden Forschungen, die Fortschritte und die wichtigste Literatur zusammengetragen und kritisch behandelt, ferner ihre eigenen wertvollen Ergebnisse und Erfahrungen beschrieben.

Die Oxydasereaktion bei den Monocyten.

Unsere eigenen Untersuchungen befaßten sich in der Hauptsache zunächst mit der Frage des Vorkommens der Oxydase-

Peroxydasereaktion in den Monocyten.

Das Wesen und der Charakter der Monocytenkörnelung erscheint, wie bekannt, als eine der anfechtbarsten Fragen der Hämatologie, besonders bezieht es sich auf die Oxydase- und Lipoidkörnelung. Mit diesen Worten meint Nesterow in einer Arbeit im wesentlichen die Auseinandersetzungen, die durch Jahre zwischen der Naegeli- und der Schilling-Schule über die Monocytenherkunft in der Literatur erscheinen. Schilling, unterstützt durch Schlenner, May, Wallbach u. a., ist, bei der Verteidigung seiner trialistischen Theorie der Herkunft der Monocyten, durch das Heranziehen einer eigenen Färbemethode (Schilling-Schlenner-Schnellreaktion), zu dem Schluß gelangt, daß die Monocyten im Prinzip oxydasenegativ sind. Naegeli hält sie nach Anwendung der Methode nach Schulze für positiv. Epstein und Goldman bestätigen Naegelis Befunde, allerdings mit der Epstein-Methode. Jagic meint, daß in normalem Blut alle Monocyten oxydasepositiv sind, daß es aber bei pathologischen Zuständen zu Oxydaseschwund der Monocytengranula kommen könnte. Ferner vertritt er den Standpunkt, daß es oxydasenegative Monocyten gibt, die angeblich epithelialen Ursprungs sind. Hirschfeld und Katsunuma sind der Ansicht, daß die Monocyten im Prinzip oxydasepositiv sind, d. h. bei Anwendung der Oxydasereaktion nach Schultze. Mit der Schilling-Schlenner-Methode fand Katsunuma, daß die Monocyten fast vollkommen oxydasenegativ waren. Hirschfeld bestätigt diesen Befund, und mit Nesterow steht er auf dem Standpunkt, daß die Meinungsverschiedenheit über den Ausfall der Oxydasereaktion bei den Blutmonocyten durch die Unvollkommenheit mancher Färbeverfahren bedingt sei.

Die oft gefundenen monocytenähnlichen oxydasenegativen Zellen des Blutes sind, nach Katsunuma, wahrscheinlich lymphatischen oder histiocytischen Ursprungs. Er glaubt, daß die Histiocyten durch ihre phagocytische Tätigkeit oxydasepositive Körner einverleiben. Diese Auffassung vertreten zum Teil auch Schlenner, Schilling, Wallbach und McJunkin.

Bis hierher haben wir nur über die Winkler-Schultze'schen bezw. Schilling-Schlenner-Schnell-Reaktionen gesprochen. Da Hirschfeld und Schilling meinen, daß der Ausfall der Peroxydasereaktion bei Blutausstrichen im ganzen keinen Unterschied gegen-

über der Oxydasereaktion zeigt, ist es am Platze zu fragen, welchen Dienst bei der Untersuchung der Monocytenfrage hat die Peroxydasereaktion geleistet. Sato und Tokue haben mit der Kupfermethode nach Sato, wie auch Doan und Sabin, Ergebnisse erhalten, die mit den der Winkler-Schultze'schen übereinstimmen. Namentlich bei frischen Ausstrichen sind die echten Monocyten positiv, die monocytenähnlichen Endothelzellen negativ. Die letzten können aber positiv reagierendes Material phagocytieren und so positive Granula aufweisen (vergl. Katsunuma, McJunkin, Wallbach). Doan und Sabin fanden, daß die Monocyten zu 95% peroxydasepositiv sind. Die 2% normalerweise im Blut vorkommenden Endothelzellen waren zu ungefähr 65% positiv.

Epstein hat mit seiner Modifikation der Graham-Methode, die eine ausgezeichnete Peroxydasereaktion gerade für die Monocyten darstellt, diese Zellen zu 100% positiv gefunden, ein Befund, den Goldmann mit derselben Methode bestätigte.

Um einen Ueberblick über die Meinungsverschiedenheiten der Oxydasereaktionsergebnisse bei den Monocyten zu geben, fügen wir Tabelle I bei. Es ist auffallend, daß außer den Befunden von Wallbach, sämtliche Ergebnisse, die für das Ueberwiegen der oxydasenegativen Monocyten sprechen, mit der Schilling-Schlenner-Methode gewonnen waren. Nur Wallbach, unter allen erwähnten Forschern, hat eine Mehrzahl von oxydasenegativen Monocyten bei der Anwendung der Epstein- sowie der Winkler-Schultze-Methode gefunden (Mitteilung).

Zur Klärung der Streitfrage über das Verhalten der Monocyten gegen die Oxydasereaktion haben wir die oxydasepositiven und -negativen Monocyten ausgezählt, die wir bei der sorgfältigen mikroskopischen Untersuchung von mehreren hunderten Blutausstrichen gefunden haben. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen bei über 150 Fällen unter Anwendung verschiedener Methoden sind in Tabelle II wiedergegeben. Tabelle III enthält die Resultate von einer kleinen Anzahl von Fällen, vergleichend untersucht mit den unter anderen Schilling-Schlenner- und Bryce-Methoden. Infolge der langen Fixierungs- und Färbezeit sind wir nicht in der Lage gewesen, eine vergleichende Untersuchung mit der Dopareaktion von Bloch (o-Dioxyphenylamin, eine Substanz mit dem Adrenalin nah verwandt) vorzunehmen. Neuerdings hat Roelofs, in Holland, eine

Tabelle I.

Die Oxydase- und Peroxydasereaktion bei den Monocyten.

	Autor	Monocyten Oxydase-Peroxydase positiv	negativ	Methode
1	Bloch	Mehrzahl		Dopa
2	Doan u. Sabin	95%		Kupfer
3	Epstein	100%		Epstein
4	Graham	Mehrzahl		Graham
5	Goldman	100%		Epstein
6	Hirschfeld	Mehrzahl		Graham und Winkler-Schultze
7	Jagic	100%		Winkler-Schultze
8	Katsunuma	Mehrzahl		Winkler-Schultze
			Mehrzahl	Schilling-Schlenner
9	May		Mehrzahl	Schilling-Schlenner
10	Naegeli	100%		Winkler-Schultze
11	Nesterow	Mehrzahl		Epstein
12	Schlenner		Mehrzahl	Schilling-Schlenner
13	Schilling		Mehrzahl	Schilling-Schlenner
14	Stockinger	Mehrzahl		Winkler-Schultze
15	Wallbach		Mehrzahl	Winkler-Schultze
			Mehrzahl	Schilling-Schlenner
			Mehrzahl	Epstein

Modifikation der Bloch'schen Methode angegeben, wodurch die Behandlung sehr verkürzt sein soll.

Weil Mono- und Lymphocyten oft schwer zu unterscheiden sind, erblicken mehrere Autoren darin die Hauptschwierigkeit bei der Forschung des Verhaltens der Monocyten zur Oxydasereaktion. Da die Lymphocyten vollkommen oxydasenegativ sein sollen, beruht diese Schwierigkeit nur auf dem Unterschied zwischen diesen Zellen und oxydasenegativen Monocyten. Daher ist eine ausreichend deutliche Kernfärbung von allergrößter Wichtigkeit. In dieser Hinsicht bleiben Safranin, Carbolfuchsin und ähnliche Farbstoffe mit wenig guter Differenzierkraft hinter Giemsa- und Toluidinblaulösungen zurück (Schlenner, Strasmann). Indem er ein Nachfärben mit stärker als gewöhnlich konzentrierter Giemsalösung vornimmt, hat Hirschfeld die Erkennung der mit Grahams-Peroxydase-

Reagenz behandelten Monocyten erleichtert. Eine solche Giemsalösung in der von Hirschfeld angegebenen Konzentration (für praktische Zwecke circa 40 Tropfen der Handelslösung auf 10 ccm Aqua dest., bei einer Färbezeit von 10—20 Min. oder länger) gibt gute Resultate als Nachfärbung bei allen Peroxydasemethoden. Leider ist sie als Kombinationsfärbung mit dem Winkler-Schultze-Reagens nicht anwendbar. Hier muß man mit Safranin oder Carbolfuchsin auskommen. Sie liefern nicht immer genügend deutliche Kernbilder, aber die dunkelblauen Oxydasegranula sind dem rosa Kerne gegenüber sehr kontrastreich. Toluidinblau, das Martinotti und Jagic als panoptische Färbung empfohlen haben, und welches Epstein mit der Graham-Methode vereinigt hat, ist, unserer Meinung nach, die zuverlässigste der Kernfärbungen bei der Peroxydasereaktion. Die Handhabung des Toluidinblaues ist besonders leicht. Wir empfehlen es, wo eine billigere, schnellere und ebenso gute Färbung wie bei der Giemsalösung verlangt wird.

Die Schilling-Schlenner-Schnell-Methode hat sich bei uns als eine befriedigende Reaktion nicht bewährt. Die Neutrophilen weisen besonders schön und distinkt gefärbte Granula auf, aber sie verlieren ihre Färbung schnell; die Eosinophilen färben sich schlecht; die Monocyten sind tatsächlich zum großen Teil oxydasenegativ. Bei wenigen Fällen finden wir die Mehrzahl der Monocyten positiv. Die Methode fordert mehr Zeit als die von Winkler-Schultze. Angesichts der sehr verschiedenen Resultate, die die zwei Methoden bei den Monocyten liefern, sind sie kaum vergleichbar. Diese Schwankung darf der Anwendung von unfixierten Ausstrichen bei der Schilling-Schlenner-Methode zugeschrieben werden. Wenn fixierte statt unfixierte Ausstriche mit dem Schilling-Schlenner'schen alkalifreien Reagens gefärbt sind, weisen sie annähernd so viele positive Monocyten auf, wie Präparate desselben Blutes die nach Winkler-Schultze behandelt sind. Dazu muß man bemerken, daß die, in jener Weise gefärbten Zellen die Granula gar nicht mehr vereinzelt zeigen, vielmehr sind die Oxydasegranula zusammengelaufen, aber die Bildung und Ermittelung des Indophenolblaues in den Zellen ist in keiner Weise dadurch beeinträchtigt.

Ungewißheit, ob eine bestimmte Zelle Monocyt, Lymphocyt oder eine jugendliche myeloische Zelle ist, besteht nur bei oxydase-

negativen Zellen, da Lymphocyten immer oxydasenegativ sind. Ob eine oxydasepositive Zelle der Monocyten-, myeloischen oder sonstigen Reihe angehört, kann man am besten durch Nachschauen der Zelltypen desselben Blutes, nach Pappenheim gefärbt, feststellen. Im allgemeinen haben die oxydasepositiven Monocyten Merkmale, namentlich die bekannte Struktur der Kerne und das Aussehen des Protoplasmas, die die erfahrenen Forscher die Zellen als Monocyten fast sicher erkennen lassen.

Zur Technik.

Von den vielen Methoden zur Demonstration des Oxydasefermentes in den Blutkörperchen, die beschrieben sind, erwähnen wir hier nur diejenigen, die gegenwärtig in Gebrauch sind, nämlich:

A. Die Oxydasereaktion (Indophenolblausynthese und Dopareaktion).

1. Die Winkler-Schultze-Methode. Die originale Dimethyl-p-Phenylendiamin-Methode und die zuverlässigste der Reaktionen dieser Gruppe.
2. Die Schilling-Schlenner-Schnell-Methode.
3. Blochs Dopareaktion. Am besten als Roelofs Modifikation.

B. Die Peroxydasereaktion. (Wasserstoffsuperoxyd und Benzidin oder a-Naphthol.)

1. Grahams Benzidin-Peroxyd-Methode. Eine erprobte und zuverlässige Reaktion.
2. Bryce-Benzidin-Natriumnitroprussid-Methode.
3. Die Kupfer-Methode von Sato.
4. Epsteins Alpha-Naphthol-Peroxyd-Toluidinblau-Methode.

Das Hauptbestreben bei der Modifikation oder der Entdeckung einer neuen Oxydasemethode ist die Entwicklung von genügendem Kontrast zwischen den positiven, gefärbten Granula und dem deutlich gefärbten Kerne, so daß kein Zweifel über die Art der vorliegenden Zelle sowie über den oxydasepositiven oder -negativen Charakter der Granula sein kann.

Die Aufgabe unserer Arbeit, Teil I, besteht in der Hauptsache in einem Vergleich von verschiedenen Methoden zur Darstellung der Oxydase- und Peroxydasegranula in den Leukocyten des Menschenblutes. Die Herstellung der Lösungen und die Anwendungsvorschriften der von uns angewandten oder probierten Oxydase- und Peroxydasemethoden sind hier angegeben:

1. Die Winkler-Schultze-Methode zur Darstellung der stabilen Oxydase an Blutausstrichen.

Lösung A: Eine 1%ige wässerige Lösung von Dimethyl-p-Phenylendiamin (Merck). Dieses Präparat wird in Mengen von je 0,5 g in Ampullen geliefert, da die Substanz sonst leicht zersetzlich ist. Die Lösung ist erst nach 30 Minuten Reifezeit, am besten über Nacht, brauchbar. Sie erreicht ihre optimale Wirksamkeit in den ersten zwei bis drei Tagen und bei Aufbewahrung im Dunkeln und bei Eisschranktemperatur behält sie genügend wirksame Kraft bis etwa 10 Tage.

Lösung B: Eine 1%ige alkalische Lösung von Alpha-Naphthol, die man so herstellt, daß man 1 g Alpha-Naphthol und 1 ccm einer 25%igen Kalilaugelösung in 100 ccm destilliertem Wasser bis zum Sieden erhitzt. Die Aufbewahrung geschieht wie bei der Lösung A.

Anwendung: 1. Die frischen lufttrockenen Blutausstriche werden in einem Gemisch von 1 Teil 40%igen Formalin und 9 Teilen 96%igem Aethylalkohol 5 Minuten fixiert.

2. Kräftiges Abspülen.

3. Ueberschichtung der Ausstriche mit einem filtrierten Gemisch von gleichen Teilen der Lösung A und B, mit Zusatz von einer genügenden Menge destillierten Wassers, um den richtigen Farbton in ½—1 Minute zu erzielen. Ganz frische Lösungen brauchen keinen Zusatz von Wasser, aber je älter die Lösungen (bis sie nicht mehr brauchbar sind), desto schneller und intensiver tritt die Reaktion ein, also desto mehr Wasserverdünnung ist nötig.

4. Sofortiges Abspülen.

5. Gegenfärbung mit einer 1 : 25 wässerigen Carbolfuchsinlösung, oder einer 1%igen wässerigen Safraninlösung.

6. Abspülen und trocknen lassen.

Ergebnisse: Die Oxydasegranula der Neutrophilen und Eosinophilen werden dunkelblau. Ein Teil der Monocyten sind oxydasenegativ, ein Teil weist spärliche kleinste blaue Granula auf. Die Granula der Basophilen oder Mastzellen sind blau gefärbt. Lymphocyten und Erythrocyten sind negativ. Aeltere Myeloblasten, die Myelocyten und Promyelocyten enthalten blaue Körnchen, die jüngsten unreifen Formen der Myeloblastten haben keine Granula (Hirschfeld).

2. Die Oxydaseschnellreaktion nach Schilling-Schlenner.

Lösung A: Eine 1%ige Dimethyl-p-Phenylendiamin-Lösung in 0,9%iger Kochsalzlösung.

Lösung B: Eine 1%ige Alpha-Naphthol-Lösung in 0,9%iger Kochsalzlösung.

Anwendung: Der gut lufttrockene unfixierte Ausstrich wird mit dem frisch bereiteten und filtrierten Gemisch der oben genannten Lösung ana 2 ccm + 8 ccm Aqua dest. bedeckt und bei schwacher Vergrößerung die Blaufärbung der Leukocyten abgewartet. Dann fügt man vorsichtig vom Rande her eine im Verhältnis von 1 : 25 verdünnte Carbolfuchsinlösung hinzu, mit der man die hämoglobinhaltige Reagenzflüssigkeit fortspült. Dann wird ein Deckglas aufgelegt und der Ueberschuß des Carbolfuchsins mit Fließpapier abgesaugt.

Ergebnisse: Alle Granulocyten zeigen blaue Granula mit roten Kernen, während die lymphatischen Elemente nur rot erscheinen; echte Monocyten meist negativ oder ganz schwach positiv mit gut erkennbaren roten Kernen, alle Erythrocyten aufgelöst. Die Präparate sind nicht lange haltbar (Schilling).

3. Die Peroxydasereaktion nach Bryce.

Lösung A: 0,3 g Benzidin Base in 100 ccm 96%igem Aethylalkohol ge-

löst, dann Zusatz von 1 ccm einer gesättigten wässerigen Lösung von Natriumnitroprussid.

Lösung B: 2 Tropfen 3%iges Wasserstoffsuperoxyd auf 15 ccm Aqua dest., frisch zubereitet.

Anwendung: 1. Frische, trockene, unfixierte oder in 1 Teil 40%igem Formalin + 9 Teilen 96%igem Aethylalkohol 5 Minuten fixierte Ausstriche werden

2. Mit Lösung A bedeckt, 1 Min.,
3. Abgießen,
4. Lösung B, 3 Min.,
5. Abspülen mit Aqua dest.,
6. Nachfärbung mit Giemsalösung, 10 Tropfen auf 5 ccm Aqua dest., 15 Minuten oder länger,
7. Abspülen und trocknen.

Ergebnisse: Alle Granulocyten haben dunkelbraune oxydasepositive Granula und violettrote Kerne. Die Lymphocyten sind negativ. Die Monocyten sind zum Teil negativ, zum Teil zeigen sie feine braune Granula und etwas blasser gefärbte Kerne als die Granulocyten.

4. Die Peroxydasereaktion nach Graham.

Lösung A: Eine gesättigte Lösung von Benzidin in 40%igem Aethylalkohol. Zum Gebrauch: 10 ccm mit 0,02 ccm (3—4 Tropfen) frisches Wasserstoffsuperoxyd.

Lösung B: Giemsalösung 25 Tropfen auf 5 ccm Aqua dest.

Anwendung: 1. Frische, trockene Ausstriche werden in einem Gemisch von 1 Teil 40%igem Formalin und 9 Teilen 96%igem Aethylalkohol 5 Minuten fixiert.

2. Kräftiges Abspülen.
3. Bedecken mit Gebrauchslösung 5 Minuten. Die Benzidinlösung vorher filtrieren oder noch besser die Benutzung von nur den oberen niederschlagfreien Schichten der ungeschüttelten Lösung.
4. Kräftiges Abspülen.
5. Nachfärbung mit Giemsalösung.
6. Abspülen und trocknen lassen.

Ergebnisse: Die Granula der neutrophilen und eosinophilen Leukocyten werden gelb bis braun, sowie die spärlichen, sehr zarten Granula in einem Teil der Monocyten, in einem Teil der Monocyten aber tritt keine positive Oxydasereaktion auf. Von den Myeloblasten zeigt die große Mehrzahl gelbbraun gefärbte Körnchen, eine Minderzahl, namentlich die jüngsten unreifen Formen, haben keine Granula; Promyelocyten sowie Myelocyten enthalten stets gelbe bis braune Granula. Lymphocyten sind niemals positiv gefärbt. Nach Hirschfeld läßt sich keine deutliche Färbung der Mastzellen erzielen.

5. Die Peroxydasereaktion nach Epstein (modifiziert).

1. Fixierung der lufttrockenen Blutausstriche wie oben.
2. Gründliches Abspülen.
3. Aufgießen einer Lösung von

Alkohol (40%)	100,0
a-Naphthol	1,0
H_2O_2 (3%)	0,2

3 Minuten.

4. Gründliches Abspülen.
5. Färben in folgender Lösung:

Toluidinblau	0,25
Liq. ammon. caust.	0,5
Alkohol (20%) ad	100,0

1—3 Minuten.

6. Abspülen und eintauchen in eine 5%ige wässerige Tanninlösung.
7. Abspülen und trocknen lassen.
8. Mikroskopieren bei künstlichem (gelbem) Licht.

Ergebnisse: Die Zellen der myeloischen Reihe geben positive Peroxydasereaktion in den Granula, die blau werden. Die positiv reagierenden Monocyten zeigen blaue Granula. Lymphocyten negativ. Kerne alle weißen Blutkörperchen werden rot gefärbt.

6. Die Kupfer-Peroxydasereaktion nach Sato.

Lösung A: Eine 0,5%ige wässerige Lösung von Kupfersulfat.

Lösung B: 0,2 g Benzidin mit einigen Tropfen Wasser im Mörser anreiben, 200 ccm Wasser zugeben, filtrieren. Dazu 4 Tropfen 3% H_2O_2. Statt dessen kann man das Grahamreagenz benutzen.

Anwendung: 1. Auf den frischen, trockenen Blutausstrich kommt die Formol-Alkohol-Fixierlösung 5 Minuten.

2. Gründliches Abspülen.
3. Lösung A aufgießen, ½ Min.
4. Abgießen (nicht abspülen).
5. Auf den feuchten Ausstrich, Lösung B, 3 Min.
6. Abspülen.
7. Nachfärbung mit der alkalischen Toluidinblaulösung der Epstein-Methode 1—3 Minuten, oder mit einer Giemsalösung, 20 Tropfen auf 5 ccm Aqua dest., 10—15 Minuten.

Ergebnisse: Positive Peroxydasegranula intensiv blau; in Leukocyten grob, in Monocyten sehr fein. Eosinophilengranula grün-blau. Kerne mit Toluidinblau Nachfärbung, rötlich-blau; mit Giemsa, wie üblich.

Bei allen Methoden geben sehr dünne und möglichst frische Ausstriche die besten Resultate. Man verwendet gewöhnliches peripheres Blut, das man aus dem Ohrläppchen, Fingerbeere, Fersen oder Zehen durch das übliche Verfahren gewinnt. Venen-, Citrat- und Heparinblut sind auch brauchbar für alle Methoden, die wir probiert haben. Wir haben mehrtägige bis vier Monate trocken aufbewahrte Ausstriche fixiert und gefärbt, um sie mit den am selben Tage, von demselben Patienten gemachten aber sofort ge-

färbten und untersuchten Ausstrichen zu vergleichen. Sie lieferten mit den Peroxydasemethoden von Graham, Epstein und Sato schön gefärbte Präparate, mit der Winkler-Schultze-Reaktion weniger gute, und schließlich mit der Schilling-Schlenner-Methode schlechte Resultate. Zahlenmäßig kommen so viele oxydasepositive Monocyten bei den vier Monate aufbewahrten Ausstrichen vor wie bei frischen. Hier haben wir also den Beweis, daß die Oxydase in ihrer Reaktionsfähigkeit mindestens vier Monate intakt bleibt.

Außer der Schilling-Schlenner-Methode ziehen wir bei allen Methoden Fixierung, und zwar 5 Minuten in der obengenannten Formol-Alkohollösung vor, da wir glauben, daß so insbesondere was die Granula betrifft, wir sichere und zuverlässigere Ergebnisse bekommen haben. Beim Vergleich fixierter und unfixierter Präparate haben wir nie beobachtet, daß die Fixierung eine nachteilige Wirkung auf der Oxydasereaktion ausübt. Die Fixierung ist im Gegenteil vorteilhaft, nicht nur weil die fixierten Präparate im allgemeinen deutlicher gefärbt sind, sondern auch da, wo man viele Ausstriche zu verarbeiten hat und deshalb so schnell wie möglich mit Sicherheit arbeiten können muß.

Hinsichtlich der Haltbarkeit der Reagentien ist zu sagen, daß wasserstoffsuperoxyd- und dimethylphenylendiaminhaltige Lösungen in Luft und Licht leicht zersetzlich sind, deshalb sind sie am besten wie Photoentwickler zu behandeln, d. h. in gutgefüllten und verkorkten braunen Flaschen im Dunkeln aufzubewahren. Selbstverständlich, besonders bei exakten Untersuchungen, sollte man die Lösungen während des Optimums ihrer Wirksamkeit anwenden. Unserer Erfahrung nach ist die Optimumwirksamkeit für die verschiedenen Lösungen, bei Aufbewahrung bei 18 Grad Celsius, etwa wie in den Fig. 1 und 2 wiedergegeben, bei 4 Grad ist sie entsprechend länger behalten.

Das wichtigste bei der Untersuchung des Blutes auf oxydasepositive und vor allem -negative Monocyten ist die Anfertigung von tadellosen Ausstrichen und deren richtiges Färben. Auf dem Objektträger sollen die Blutkörperchen nur eine Zellschicht tief liegen, sollen aber dicht genug stehen, um fast miteinander in Berührung zu kommen. Bei zu dichten Ausstrichen sind die weißen Blutkörperchen gekrampft und färben sich schlecht; bei sehr dünnen Ausstrichen sind sie oft verletzt mit Ausschwimmung der Oxydase-

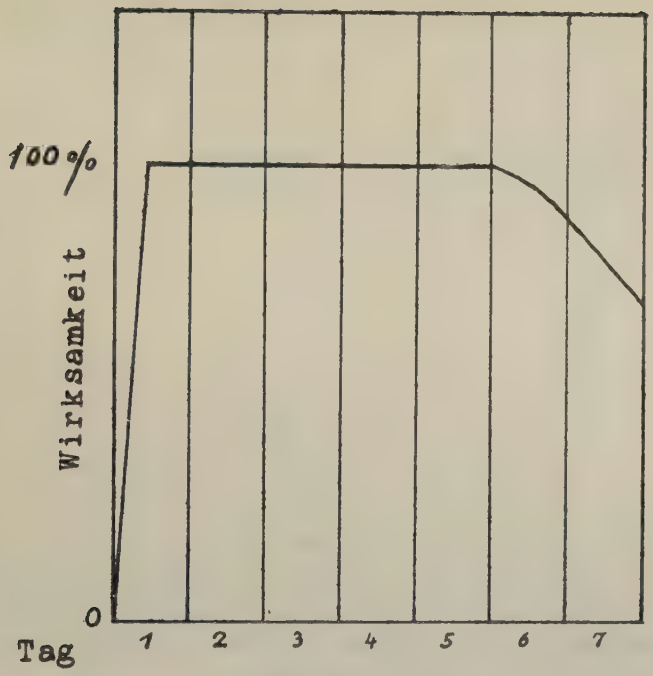

Fig. 1.
Haltbarkeit der Dimethyl-p-Phenyldiamin-Lösung bei 18 Grad C.

granula. Um für die Oxydasereaktion geeignete Ausstriche zu erlangen, muß man an bestimmten technischen Anforderungen festhalten. Gute Ausstriche sind abhängig von:

1. Der Anwendung peinlich sauberer, fettfreier, trockener Objektträger und Ausstreicher.
2. Kleinen, nicht großen, Bluttropfen.
3. Der Geschwindigkeit des Ausstreichens des Blutes auf dem Objektträger.

Der dritte Punkt ist eine Sache der Erfahrung; wenn die Geschwindigkeit beim Ausstreichen groß ist, wird die Blutschicht zu dick, wenn zu langsam, wird sie wellenförmig, also ungleich dick.

Da das Thema der genauen Herstellung von Ausstrichen so wichtig ist, geben wir noch Einzelheiten unserer Technik. Für alle unsere Präparate haben wir nur neue Objektträger benutzt (was

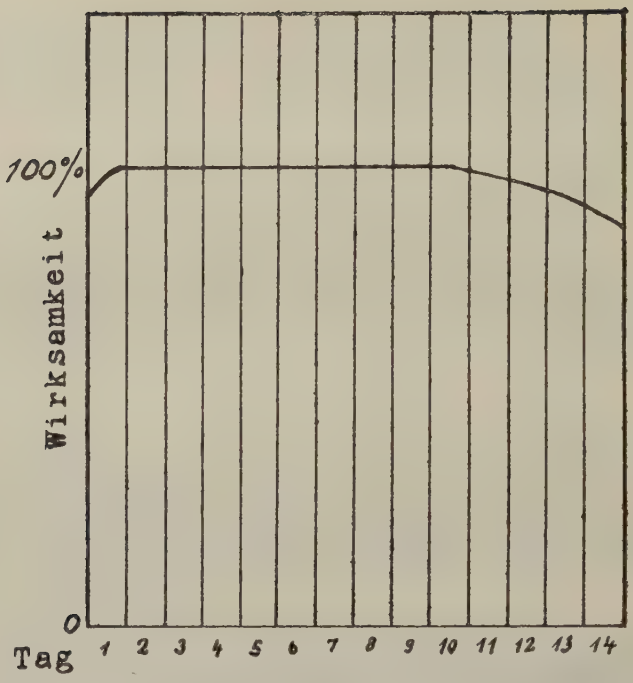

Fig. 2.
Haltbarkeit der H_2O_2-haltigen Lösungen bei 18 Grad C.

allerdings für Genauigkeit bürgt, aber keineswegs eine conditio sine qua non für routinierte Arbeit ist). Wir haben sie in folgender Weise sauber gemacht:

1. Gründliches Waschen in warmem Seifenwasser.
2. Abspülen in fließendem Wasser.
3. Uebernachten in 96%igem Alkohol und Aether ana.
4. Trocknen und putzen mit sauberen Tüchern.

Zur Sicherung eines freirandigen Präparates ist das Ausstreichen des Blutes nach Schillings Vorschriften erfolgt. Schnelles Trocknen des frisch ausgestrichenen Blutes und Färben innerhalb einer Stunde sichert schöne Präparate.

Sehr wichtig bei dem Färben der Oxydasegranule der Monocyten ist die Verhinderung von Niederschlägen der Farbstoffe auf dem Ausstrich. Niederschläge verschleiern das Bild und ver-

ursachen Ungewißheit, ob die Monocyten oxydasepositiv oder -negativ sind. Das Freihalten der Ausstriche von Niederschlägen ist nur durch strenge gleichmäßige Behandlung und genügende Vorsichtsmaßregeln möglich. Alkoholische statt wässerige Lösungen haben uns die saubersten Präparate geliefert. Wenn wir Benzidin- oder Giemsalösungen anwenden, saugen wir mit einer Pipette nur die obenstehenden niederschlagfreien Schichten aus der Flasche, und der betreffende Objektträger wird nicht berührt bevor das Reagenz mit Aqua dest. abgespült wurde. Ferner (für allerschönste Präparate erforderlich) lassen wir die gefärbten Ausstriche von selbst trocknen.

Unsere Erfahrung mit der Epstein'schen Toluidinblaulösung in der ursprünglich angegebenen wässerigen Konzentration hat uns gelehrt, daß trotz wiederholten Filtrierungen lästige Niederschläge immer auf den Ausstrichen zu finden gewesen sind, was zuverlässige Beobachtungen über die Oxydasereaktion bei den Monocyten verhinderte. Epstein selber hat diesen Mißstand seiner vortrefflichen Methode erkannt und hat wiederholte Filtrierungen der Toluidinblaulösung vor dem Gebrauch empfohlen. Glücklicherweise haben wir diesen Mißstand überwinden können, sowohl denjenigen der langen Färbezeit (1 bis 24 Stunden), durch die Anwendung von einer schwachen Toluidinblaulösung in Alkohol mit Zugabe von Alkali. Ferner haben wir gegen das Vorhandensein von etwaigen Niederschlägen die Ausstriche nach jeder Stufe des Färbens mit einem ausreichend kräftigen Leitungswasserstrahl abgespült.

Bei allen Methoden, wo man mit fixierten Ausstrichen arbeitet, empfiehlt sich das Feuchthalten derselben von Anfang bis zum Ende des Färbens. Dadurch wird Zeit gewonnen, die Präparate bleiben niederschlagfrei, und die Ausstriche scheinen uns deutlicher gefärbt zu sein. Gegen dieses Verfahren könnte man den Einwand erheben, daß es unzuverlässig sei, in dem Sinne, daß manche Zellen durch örtlich verdünnte Farblösung entsprechend schwächer gefärbt wurden. Wenn aber jedesmal genügendes Reagenz oder Farblösung auf den Objektträger kommt, oder bei Kuvettenfärben der Objektträger in der Lösung schnell hin und her bewegt wurde, fällt dieser Einwand weg. Der Vergleich von Präparaten, getrocknet zwischen jeder Stufe des Färbens und denjenigen, feucht gefärbt ohne einmal trocken zu werden, hat uns überzeugt, daß keine nennenswerte

Differenz zwischen den Resultaten der beiden Verfahren besteht. Dies gilt insbesondere für die Intensität der Färbung innerhalb der weißen Blutkörperchen und für die relative Zahl der oxydasepositiven und -negativen Monocyten. Also bietet die Feuchtmethode schnelleres Färben bei ebenso zuverlässigen Ergebnissen.

Wie Schilling gezeigt hat, sind die Zellen am Rande und am Ende des Ausstriches nie richtig gefärbt, da sie deformiert, zusammengepreßt und sonstwie verletzt sind. Daher sind diese Zellen fast immer entweder oxydasenegativ oder zeigen mangelhafte Färbung. Im besonderen leiden die Monocyten. In diesem Lichte betrachtet sind die Deckglaspräparate zu bevorzugen. Ihre Herstellung geschieht durch das Auflegen eines mit einem winzigen Tropfen Blutes beschickten Deckglases auf ein zweites; Abwarten bis der Tropfen ausgebreitet ist und dann mit einer schnellen Bewegung die zwei Deckgläser in paralleler Ebene auseinanderreißen. Auf solchen Präparaten sind die Leukocyten ziemlich gleichmäßig verteilt und weisen wenige Verletzungen auf. Wo bei manchen Anämien bzw. Leukopenien die gewöhnlichen Objektträgerausstriche untaugliche Anhäufungen der Leukocyten am Ende des Ausstriches liefern, bieten Deckglaspräparate Vorteile. Es ist allerdings zu bemerken, daß die Handhabung der kleinen Deckgläser schwieriger als die der Objektträger ist.

Wie unten beschrieben, üben die Reagenzien einen Einfluß auf die Intensität der Oxydasereaktion aus. Um gleichmäßige Resultate und so Gewißheit über die vergleichenden Ergebnisse zu erzielen, haben wir unsere gesamten Experimente unter Benutzung von Farbstoffen und Chemikalien derselben Herstellungsfirmen, sogar womöglich von demselben Schub durchgeführt. Wir haben stets frische Lösungen innerhalb ihrer optimalen Wirkungszeit angewandt.

Bei der Ausführung der Graham-Reaktion haben wir die interessante Beobachtung gemacht, daß manche Benzidine die oxydasepositiven Granula so blaßgelb färben, daß der positive Charakter der Zellen gar nicht sicher zur Darstellung gebracht wird. Dies trifft besonders zu, wo die Präparate, wie im Winter, beim künstlichen Lichte mikroskopiert werden. Auf der anderen Seite haben wir bei der Anwendung von frischem Benzidin-Merck nur sehr deutlich braun gefärbte Granula gesehen. Dies ist ein Beweis da-

für, daß nur einwandfreie Chemikalien zuverlässige Resultate bei dem mikrochemischen Nachweis des Oxydasefermentes in den weißen Blutkörperchen liefern.

Unsere Erfahrung hat uns großes Vertrauen zu der Epstein-Methode in Bezug auf ihre sichere Darstellung der Oxydasegranula gebracht. In unseren Händen hat sie immer intensiv gefärbte, deutlich erkennbare Oxydasegranula geliefert. Wir empfehlen sie wegen:

1. Der relativen Stabilität der Lösungen.
2. Des weiten Spielraumes in der Färbezeit und des Freiseins von Ueberfärbung.
3. Der großen Sichtbarkeit der gefärbten positiven Granula, des Kernes und Protoplasmas, daher leichte und genaue mikroskopische Untersuchung.
4. Der gleichmäßigen Resultate.
5. Der Permanenz der Reaktion.

Ergebnisse:

Mit den oben beschriebenen Methoden haben wir bei über 200 Gesunden und Kranken die Leukocyten im peripherischen Blut untersucht. Als gesunde Versuchspersonen kamen Studenten und Laboratoriumspersonal in Frage. Die Kranken stammten aus verschiedenen Kliniken Berlins, wie die folgende Tabelle zeigt:

Zahl d. Fälle	Krankheit	Klinik oder Poliklinik
9	Lungentuberkulose	II. Medizinische Klinik der Charité
25	Lungentuberkulose	II. Medizinische Klinik des Krankenhauses Moabit
16	Haut	Univ.-Hautklinik der Charité
1	Sepsis	I. Medizinische Klinik der Charité
1	Sepsis	Chirurgische Klinik der Charité
1	Sepsis	Kinderklinik der Charité
2	Keuchhusten	Kinderklinik der Charité
18	Innere	I. Medizinische Klinik der Charité
138	Innere	Univ.-Polikilinik für Krebskrankheiten.

Es ist nicht die Aufgabe dieser Arbeit über den Ausfall der Oxydasereaktion bei bestimmten Krankheitsgruppen zu sprechen. Wir haben die Gruppe Lungentuberkulose untersucht, um festzustellen, ob bei einer einzelnen Krankheit ähnliche Resultate heraus-

kommen wie bei einer wahllosen, von verschiedenen Krankheiten zusammengestellten Gruppe (Tabelle V).

Allgemeine Befunde.

Erythrocyten und Lymphocyten oxydasenegativ, ebenso Blutplättchen.

Basophile: Leider haben wir die Zahl der gefundenen positiven und negativen Mastzellen nicht voneinander getrennt festgestellt, deshalb können wir das zahlenmäßige Vorkommen der Oxydasereaktion bei dieser Zellart nicht angeben. Trotz der Ansicht Hirschfelds und Tokues, daß die Mastzellen im Blute vorwiegend negativ sind, und obwohl man bei der Untersuchung fast nur granulaleere Zellen findet, sind wir der Meinung, daß mehr positiv reagieren, wie man zu glauben pflegt. Die wohlbekannte leichte Ablösbarkeit der Mastzellengranula ist, nach Tokue, noch leichter, wenn Doppelfärbung erforderlich ist. Bei Leukämien mit Ausschwemmungen von Mastzellen haben wir eine deutliche positive Oxydasereaktion in den bei fast allen Zellen gut behaltenen Granula gesehen.

In weiteren Publikationen wollen wir auf die Oxydasereaktion bei den Mastzellen des Blutes ausführlicher eingehen.

Neutrophile: Wir haben negative Neutrophile selten gesehen und jedesmal konnten wir diesen Zustand auf die folgenden Umstände zurückführen: alte Ausstriche, ungenügende Fixierung, alte Lösung, Ueberschuß von Alkali in dem Reagenz oder zu lange Färbezeit. Wir haben diese Ursachen mit Absicht oft ausprobiert und wir weisen darauf hin, daß in unseren Händen die Methode nach Epstein sich als die unter allen Umständen zuverlässigste erwiesen hat.

Selbst schwach positive Neutrophile sind nicht unter unserem Material gefunden, auch nicht einmal unter den Bestrahlungsfällen, wo gerade, nach Jagic, ein Oxydaseschwund zu erwarten war. Satos Behauptung des gelegentlichen Vorkommens von oxydasenegativen Neutrophilen bei Sepsis haben wir bei unseren Fällen von Erysipel, Sepsis und Infektionskrankheiten, alle mit hohem Fieber, nicht bestätigen können.

Eosinophile: Daß alle Eosinophile oxydasepositiv reagieren, ist die einstimmige Meinung aller Forscher. Unsere Er-

fahrung mit Menschenblut bestätigt dies. Wo genau zusammengesetzte und frische Reagenzien angewendet worden sind, haben wir nie negativ reagierende Eosinophile gesehen. Mag die Methode die eine oder die andere sein, ihr Ausfall in den Eosinophilen scheint stets gleich stark positiv zu sein. Die Granula können undeutlich gefärbt sein, wenn die Farblösung zu konzentriert ist oder zu lange in Kontakt mit dem Ausstriche bleibt. In beiden Fällen scheinen die Granula zusammenzufließen, also verlieren sie ihre individuellen Grenzen (Graham- und seltener Epstein-Methode), oder die Granula werden undeutlich durch Ablagerung von Kristallen (Kupfer-Methode). Im allgemeinen kann man sagen, daß das Mißlingen gut definierter Granula in den Eosinophilen auf die obenerwähnten Ursachen zurückzuführen ist.

Dem Abblassen der positiven blauen Färbung in den mit der Winkler-Schultze-Reagenz gefärbten Eosinophilengranula haben wir besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Darüber sind einige interessante Tatsachen hier erwähnt. Dieses Abblassen hängt nicht ganz von aktinischer Wirkung ab. Wir haben richtig gefärbte Präparate dem Sonnenlicht, dem elektrischen Licht und der Dunkelheit ausgesetzt, und fanden, daß das Abblassen in den verschiedenen Arten von weißen Blutkörperchen planlos erfolgt, d. h. es ist immer ungewiß, welcher Typ von Leukocyt seine Oxydasereaktion zuerst verlieren wird, obwohl dies in den Eosinophilen ziemlich oft stattfand. Nach Goldmann, der die Widerstandsfähigkeit der Oxydasegranula der Blutkörperchen erforscht hat, verlieren, bei vorheriger Behandlung mit Wärme oder Licht, die Eosinophilen ihren oxydasepositiven Charakter zu allerletzt. Er erklärt, daß bei seinen Experimenten, wo die Ausstriche vor dem Färben der Wärme oder dem Licht ausgesetzt gewesen sind, die Zellen ihren positiven Oxydasecharakter in der folgenden Reihenfolge verloren haben: 1. Monocyten, 2. Neutrophile, 3. Eosinophile. Das heißt, daß die Eosinophilengranula gegen Wärme und Licht am widerstandsfähigsten, die der Monocyten es am wenigsten sind. Wir konnten diesen Befund bestätigen.

Es ist wohlbekannt, daß das Indophenolblau lichtempfindlich ist. Ausstriche nach Winkler-Schulze gefärbt, weisen nach Stunden oder Tagen keine oder wenige Blaufärbung mehr in den Oxydasegranula auf, sie sind abgeblaßt. Das Abblassen scheint keine

Reihenfolge der Leukocyten zu bevorzugen. Die Eosinophilengranula, nach Behandlung mit der Winkler-Schulze-Lösung, werden hell- bzw. dunkelblau, je nach der Konzentration der Lösung oder der Dauer der Färbezeit. Diese positiven Granula blassen bei manchen Ausstrichen nach Minuten, bei anderen nach Stunden, bei manchen erst nach Tagen zu einem schmutzigen Grau ab, aber es gibt fast immer zirka 2 bis 5 Granula, die ihr originales Dunkelblau festhalten. Diese relativ farbenbeständigen Granula sitzen fast ohne Ausnahme auf dem Kerne oder in Kontakt mit ihm. Das Abblassen der Granulafärbung beginnt gewöhnlich in den von dem Kerne am weitesten entfernten Granula. Außerdem haben wir beobachtet, daß gelegentlich solche farbbeständige Granula frei zwischen den Erythrocyten liegen, da, wo die Eosinophilen durch Verletzung ihren Inhalt verloren haben. Einzelheiten über das Verhalten dieser Granula bei der Färbung nach der Epstein-Methode sind weiter unten gegeben. Diese Farbbeständigkeit mancher Granula, die scheinbar durch die Nachbarschaft des Kernes beeinflußt ist, ist anscheinend durch Stoffwechselprodukte innerhalb der Zelle selbst hervorgerufen. Schließlich verlieren diese Granula ihre positive Oxydasefärbung auch. Bei dem Wiederfärben abgeblaßter Granula zeigt sich, daß, wenn die Färbung einmal verloren ist, die Granula selten, wenn überhaupt, die Fähigkeit besitzen, sich nochmal färben zu lassen.

Nebenher möchten wir erwähnen, daß die Nuance des Blaues der oxydasepositiven Eosinophilengranula niemals dieselbe ist wie diejenigen der Granula der Neutrophilen oder Monocyten. Sie ist blasser mit den Peroxydasereagenzien, dunkler mit dem Winkler-Schulze-Reagenz.

Monocyten: Die Färbungsergebnisse der verschiedenen Oxydasereaktionen bei den Blutzellen sind schon unter der Beschreibung der Methoden erwähnt. Es bleibt hier nur zu sagen, daß gerade in den Blutmonocyten, wo die Oxydasegranula klein und oft recht spärlich sind, diejenige Reaktion oder Methode der Färbung, die die Granula als scharfumrissene, leicht erkennbare, dauerhafte Gebilde wiedergibt, die beste ist. Bei Anwendung der Winkler-Schulze-Methode haben wir die Abblassung der Eosinophilen-, Neutrophilen- und Monocytengranula verfolgt und wir wissen wie schnell sie manchmal vor sich geht. Nur bei einem

gewissen Grad der Ueberfärbung kann man die feinsten Monocytengranula als oxydasepositiv darstellen. Zu erwähnen ist, daß die Abblassung der Granula noch schneller bei der Schilling-Schlenner-Methode eintritt. Als Dauerfärbung für die mit Dimethyl-p-Phenylendiamin behandelten Monocyten lehnen wir die Jodierung nach v. Graefe ab. Selbst die gröberen Granula der Eosinophilen und Neutrophilen verlieren an Deutlichkeit durch diese Behandlung. Wo die Schultze-Methode angewendet wird, ziehen wir das sofortige Mikroskopieren vor.

Bei Anwendung der Schilling-Schlenner-Schnellreaktion haben wir in der Tat eine sehr niedrige Zahl oxydasepositiver Monocyten gefunden, dagegen viele negative (Tabelle III). Wenn wir die Ausstriche vorfixieren und dann mit den Schilling-Schlenner-Reagenzien gefärbt haben, bekamen wir Werte für die positiven Monocyten, die mit denen der Winkler-Schultze- und Peroxydasereaktionen zu vergleichen sind. Freilich sind die positiven Leukocytengranula der vorfixierten mit Alkalifreireagenzien behandelten Ausstriche nicht immer so scharf umrissen wie bei der sogenannten Schnellreaktion, vielmehr sind sie oft zusammengeflossen, aber die Indophenolblaubildung und sein Nachweis sind nicht dadurch beeinträchtigt.

Die Behauptung Schlenners, daß die Erythrocyten in der nächsten Umgebung von oxydasepositiven Zellen positiv mitgefärbt sind, können wir bestätigen, allerdings nur bei unfixierten Ausstrichen nach Schilling-Schlenner und gelegentlich sogar nach der Bryce-Peroxydase-Methode. Die Erscheinung haben wir nur von segmentkernigen Zellen ausgehend sehen können. Sein zweiter Befund der Anhäufung oder Gruppierung der positiven Granula an der Kontaktseite in Monocyten, die in Berührung mit oxydasepositiven Neutrophilen gestanden haben, haben wir bei der Betrachtung mehrerer Hundert solcher Zellen nie gesehen. Vielleicht hat es sich in seinen Beobachtungen um labile Oxydase gehandelt.

Was die Färbung der Oxydasegranula der Monocyten anbetrifft, ziehen wir die Peroxydasereaktion, insbesondere die Epstein-Methode, vor.

Eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse unserer Arbeit über die Oxydasereaktion bei den Monocyten des Menschenblutes ist folgende:

1. Unsere Hauptserie von Untersuchungen, das Blut von 160 Kranken und Gesunden einschließend, ergab einen Wert von 9 bis 11,8% oxydasenegativer Monocyten (Tabelle II u. Fig. 3—4).

2. Eine Gruppe von 10 gesunden Fällen hatte 9,3 bis 10,6% oxydasenegative Monocyten (Tabelle IV).

3. 33 Fälle von Lungentuberkulose zeigten 9,3 bis 10,2% negativer Monocyten (Tabelle V).

4. Ein Vergleich der vier Methoden: Winkler-Schultze, Schilling-Schlenner, Epstein und Bryce lieferte bei 10 Fällen 10,7, 34,8, 12,7 und 12% negativer Monocyten (Tabelle III).

Andere Beobachtungen bei den Untersuchungen der Monocyten sind: 1. Die sichtbaren positiven Oxydasegranula haben nicht selten so niedrige Zahlen wie 1 bis 5. 2. Die positiven Granula haben niemals eine systematische Gruppierung, gewöhnlich liegen einige auf dem Kerne. 3. Die Granula können in artähnlichen Zellen verschieden groß sein. 4. Die Färbungsintensität der Granula in einem Monocyt ist weniger variabel als die der Oxydasegranula der Neutrophilen und vor allem der Eosinophilen. 5. In den Monocyten, nach Epstein gefärbt, findet man gelegentlich gelbbraune Granula, die neben den typischen blauen oxydasepositiven Granula auftauchen. Aehnliche findet man bei den Neutrophilen.

Ueber das Verhalten der Monocyten des Tierblutes zur Oxydasereaktion werden wir in späteren Publikationen berichten.

Intensität der Oxydasereaktion in den weißen Blutkörperchen.

Jagic, Stockinger und andere Forscher meinen, daß die Intensität der Oxydasereaktion in den weißen Blutkörperchen durch pathologische Zustände, sowie in den Monocyten auch durch Phagocytose, geändert sein kann. Das Problem der Intensität der Färbung in den Granula ist ein interessantes. Soweit die Monocyten in Frage kommen, ist es in vielen Fällen leicht die Zahl der sichtbaren oder identifizierbaren oxydasepositiven Granula zu zählen, obwohl man oft genug Monocyten sieht, die mit nur sehr feinen, schwer als oxydasepositiv erkennbaren Granula versehen sind. Wenn die oxydasepositive Granula der Monocyten eine exogene Herkunft als phagocytierte Partikelchen haben (McJunkin,

Wallbach etc.), dann könnte man annehmen, daß diese ingestierten Partikelchen folgende Schicksalsmöglichkeiten haben:

1. Sie bleiben innerhalb der Zellen unverändert, oder
2. Sie werden durch intrazelluläre Verdauung vernichtet oder zum mindesten verändert, oder
3. Sie werden aus den Zellen ausgestoßen.

Also die Zahl der zu einer festgesetzten Zeit in einer bestimmten Zelle vorhanden Oxydasekörnchen würde in erster Linie von der phagozytären Tätigkeit der Zelle, in zweiter Linie von der Verdauungstätigkeit bezw. Ausstoßungsfähigkeit abhängig sein. Die Theorie der exogenen Herkunft der oxydasepositiven Substanz der Monocytengranula behauptet, daß die Granula im Wesen nicht oxydasepositiv sind, sondern nur zufälligerweise. Eine solche akzidentelle Herkunft würde den schwankenden Prozentsatz der oxydasepositiven und -negativen Monocyten erklären. Auf der anderen Seite, wenn die Monocytengranula von Natur positiv sind, könnten sie durch die Wirkung von ingestierten Substanzen oder die Tätigkeit der Verdauungsprodukte dauernd oder nur vorübergehend negativ werden. In vielen Fällen scheint es, als ob die oxydaseenegativen Monocyten jugendlich sind und ihren hochspezialisierten Apparat, die Oxydasegranula, noch nicht ausgebildet haben (Hirschfeld). Naegeli hielt die Oxydasegranula für wesentliche Bestandteile der Monocyten.

Die Anzahl von sichtbar oxydasepositiven Granula in den Monocyten schwankt. Wir haben so wenig wie eine und sehr oft weniger als zehn gesehen, aber manche Monocyten besitzen eine unzählbare Zahl. Wenn wir die Oxydasegranula der Neutrophilen als Norm betrachten, dann sind die der Monocyten größer und kleiner und die der Eosinophilen weitaus größer. Die Mastzellengranula haben eine Größe zwischen derjenigen der Neutrophilen und der Eosinophilen.

Die Granula in den weißen Blutkörperchen sind nicht gruppiert, sie liegen planlos im Protoplasma mit einigen auf dem Kerne. Dies ist wahrscheinlich die Folge der mechanischen Faktoren im Spiel bei dem Ausplatten der Zellen nach dem Ausstreichen auf den Objektträger, wodurch das konsequente Seitwärtsrücken der Granula von ihrer ursprünglichen Lage in der lebenden Zelle über dem Kerne durch die kugelige Gestalt des festeren Kernes bedingt ist.

Da dieses Abplatten schnell stattfindet, bleiben manche Granula über dem Kerne fest verankert. Es ist von Interesse, daß bei den Monocyten wie bei den Eosinophilen die Granula in Kontakt mit oder in nächster Nähe des Kernes einen anderen Farbton annehmen.

Der Ausdruck „Intensität der Oxydasereaktion“ hat verschiedenerlei Bedeutung, er läßt sich verstehen als:

1. Die Reaktion des Ausstriches als Ganzes (alle Zellen).
2. Die Reaktion einer einzelnen Zelle (einer Art von Zelle).
3. Die Reaktion eines einzelnen Körnchens.

Die Eosinophilen scheinen die intensivste Oxydasereaktion aller weißen Blutkörperchen zu haben. Die Granula der Eosinophilen (75—125) sind groß und füllen zum großen Teil den Protoplasmaraum aus. Man hat den Eindruck, daß die Neutrophilen eine schwächere Reaktion als die Eosinophilen geben, aber das ist falsch, er ist hervorgerufen durch die Kleinheit der Neutrophilengranula. Bei unserer Berechnung sind mindestens 150, gewöhnlich mehr Granula in jeder Neutrophilen. Sie sind viel kleiner als die Eosinophilengranula, lassen mehr von dem Protoplasmaraum frei bleiben und daher scheinen die Neutrophilen schwächer oxydasepositiv als die Eosinophilen. In den Monocyten sind die Granula oft so fein oder spärlich, daß die Zellen als oxydasenegatives oder sehr schwach -positives Gebilde auftreten. Wenn Granula (eosinophile, neutrophile oder monocytäre) oxydasepositiv sind, sind sie stark positiv. Immerhin schwankt die Intensität der Färbung der Granula einzelner Zellen innerhalb von engen Grenzen. Wie schon erwähnt finden sich oft einige dunkler gefärbte Granula.

Epstein demonstrierte vor einigen Jahren, das die Neutrophilen, nach seiner Toluidinblau-Methode gefärbt, außer blauer gewöhnlicher oxydasepositiver Granula auch feine anders gefärbte Körnchen aufweisen. Wir haben ähnliche Gebilde bei der Neutrophilen und Monocyten und sehr selten bei den Eosinophilen gesehen, aber diese Erscheinung ist nur eindeutig bei Kaninchenblut. Andere Methoden, namentlich die Grahamsche, liefern gelegentlich zwei Arten von Granula oder Körnchen. Wir glauben, daß die feinen Körnchen von Abschnürungen oder beschädigten Teilen des Spongioplasmas herrühren oder daß sie im Abbau befindliche Oxydasegranula darstellen. Selbstverständlich kann man bei den panoptischen Färbungen, wie etwa bei der Pappenheim-Methode,

Unterschiede in den Farbtönen der Körnchen beobachten (Klieneberger und Carl). Scheinbar ist die Verschiedenheit der Farbenintensität in den Granula oder Körnchen auf eine Differenz ihrer pH zurückzuführen. Ueber Differenzen der Granulafärbung bei den Eosinophilengranula, nach Winkler-Schulze gefärbt, haben wir an anderer Stelle berichtet. In Teil II dieser Arbeit bringen wir Einzelheiten über das Problem der zwei Arten von Granula bezw. Körnchen in den weißen Blutkörperchen des Tierblutes.

Obwohl, wie eben geschildert, die Granula einer einzigen Zelle Farbunterschiede untereinander aufweisen können, sind wir erstaunt, daß unsere Serie von Ausstrichen eine solche auffallende Gleichmäßigkeit der Intensität der Oxydasereaktion innerhalb der Zellen einer Art aufweist, dies trifft besonders bei den Neutrophilen und den Eosinophilen, weniger bei den Monocyten zu, welche einen beträchtlichen Unterschied der Zahl und gewissermaßen der Größe der positiven Granula in einem und demselben Ausstrich, sowie von Fall zu Fall erkennen lassen. Unserer Erfahrung nach reagieren in jedem Falle auf der einen Seite alle Eosinophilen und auf der anderen alle Neutrophilen mit großer Gleichheit, aber wir möchten hier erwähnen, daß man segmentkernige Neutrophile von nicht unbedeutender Zahl findet, die etwas größer und von blasserer Gesamtfärbung als der Durchschnitt sind. Die Ergebnisse Stockingers stehen in direktem Gegensatz zu den unseren. Er meint, daß unter bestimmten pathologischen Zuständen die Neutrophilen oxydasenegative bis hochpositive Granula haben können. Einen solchen Unterschied oder solche Schwankung haben wir unter reifen weißen Blutkörperchen kaum gesehen.

Bei unseren wenigen Fällen von mit Röntgenbestrahlungen behandelten Patienten sind wir noch nicht in der Lage gewesen, ein Verschwinden der Oxydasereaktionsfähigkeit, selbst nicht eine Abschwächung dieser Fähigkeit im Sinne Jagics zu beobachten. Wir sind der Meinung, daß solche Abschwächung möglich ist. Wahrscheinlich hängt sie von der Wirkung der Strahlen auf die Ursubstanz des Oxydaseapparates ab, d. h. nicht die schon gebildete oxydasepositive Substanz, sondern die Fähigkeit, oxydasepositiven Stoff aufzunehmen oder zu bilden, wird zerstört. Es liegt auf der Hand, daß, um solchen Zustand der Zellen zu erzielen, die Strahlen auf die blutbereitenden Organe wirken müssen. Da unsere Pa-

tienten nur gewöhnliche örtliche Bestrahlungen erhalten haben, können wir Jagics Befunde nicht bestätigen. Abgesehen von Jagics Aussage können wir von partiellem Fehlen der nachweislichen Oxydase bei nicht bestrahlten Fällen von Leukämie berichten.

Also zwischen den Extremen des Schwundes der Oxydasesubstanz oder mindestens des Ausbleibens einer normalen Oxydasereaktion, wie Jagic bei Röntgenbestrahlungen und bei pathologischen Zuständen gefunden haben will, und der Darlegung Stockingers, daß Arzneimittel (Adrenalin) etc. die Intensität der Reaktion vermehren können, stehen unsere Beobachtungen an über 200 Fällen von Lungentuberkulose, Hautkrankheiten, Carcinoma, Diabetes, Sepsis, Infektionskrankheiten etc., sowie Gesunden, mit nur seltenen Ausnahmefällen von bemerkenswerten Veränderungen der Oxydasereaktion, die wir nicht auf ungleichmäßige oder fehlerhafte Technik zurückführen konnten. Wir möchten hier betonen, daß das Ziel unserer Arbeit nicht die Bestätigung oder Widerlegung der Ergebnisse anderer Autoren gewesen ist, sondern nur die Erforschung der Oxydasereaktion im Lichte vergleichender Methoden und womöglich die Feststellung des zahlenmäßigen Vorkommens von oxydasepositiven und -negativen weißen Blutkörperchen, mit Bemerkungen über die Vor- und Nachteile der verschiedenen Methoden, die wir angewandt haben.

Zusammenfassung.

1. Eine parallele Untersuchung der Oxydase- und Peroxydasegranula der Blutzellen wurde bei 200 Gesunden und Kranken unter Anwendung der Winkler-Schultze- und der Schilling-Schlenner-Oxydasemethoden und der Peroxydasemethoden nach Bryce, Graham, Epstein und Sato vorgenommen. Durch diese vergleichenden Untersuchungen sind die Vorzüge und Nachteile der Methoden, mit besonderer Rücksicht auf ihre Bedeutung für die Darstellung der Oxydase- und Peroxydasegranula in den Monocyten, festgestellt.

2. Es wurde ermittelt, daß zirka 9 bis 12 Prozent aller Monocyten eine negative Oxydase- bezw. Peroxydasereaktion geben.

3. Das zahlenmäßige Vorkommen von oxydasepositiven und peroxydasepositiven Zellen einerseits, und von oxydasenegativen

und peroxydasenegativen andererseits stimmt bei allen Methoden, ausgenommen der von Schilling-Schlenner, überein. Also für klinische und praktische Zwecke genügt eine Reaktion, nämlich die Peroxydase, da sie der Oxydasereaktion (Indophenolblausynthese) durch billigere und haltbarere Reagenzien, leichtere Handhabung und Zuverlässigkeit überlegen ist.

4. Die Ueberlegenheit der fixierten Präparate gegenüber den unfixierten ist bei allen Methoden ermittelt.

5. Für die Untersuchung der Peroxydasereaktion der Blutzellen überhaupt und bei den feinsten Granula insbesondere ist die Peroxydasemethode nach Epstein (modifiziert) empfohlen.

Tabelle II.

Die Oxydasereaktion der Monocyten.

Nr.	Name	Methode							
		Winkler-Schultze		Graham		Epstein		Kupfer	
		+	—	+	—	+	—	+	—
1	Sab	12	1	14	0	10	0	12	0
2	Briet	22	0	10	1	18	2	22	0
3	Bri	10	2	17	3	14	3	15	2
4	Dan	21	0	23	2	16	2	21	0
5	Her	24	1	22	2	17	1	23	0
6	Herm	26	2	23	2	27	3	25	2
7	Geb	25	0	24	0	29	0	27	2
8	Zah	21	0	—	—	24	3	—	—
9	Dre	13	2	18	1	12	0	19	1
10	Leh	—	—	12	0	10	1	—	—
11	Ban	17	1	19	0	17	0	16	0
12	Kle	11	1	16	1	11	0	13	1
13	Her	—	—	17	2	14	3	19	2
14	Gri	14	1	12	1	13	2	16	1
15	Gro	8	2	8	2	9	1	5	1
16	Roe	7	1	5	0	8	4	9	3
17	Lie	16	2	9	1	16	2	13	2
18	Hei	19	3	21	3	24	4	20	3
19	Sit	23	4	20	3	21	4	—	—
20	Neg	9	1	10	1	18	3	16	2
21	Flo	26	4	28	4	30	2	30	3
22	Dre	—	—	10	1	18	0	9	2
23	Wit	10	2	8	1	10	1	6	0
24	Ulr	—	—	6	0	7	1	8	0
25	Dra	8	0	6	2	7	0	8	0
26	Roe	—	—	7	2	10	3	—	—
27	Sha	11	1	6	0	12	2	10	2
28	Ehr	13	2	6	1	16	4	8	0
29	Schy	7	1	9	2	10	2	8	1
30	Schn	12	2	13	2	17	2	14	3
31	Hab	20	0	16	1	22	2	22	1
32	Sch	19	2	27	4	22	2	22	1
33	Edi	8	0	10	1	13	1	12	1
34	Moh	16	0	12	4	14	3	13	5
35	Eis	16	1	17	2	18	3	9	1
36	Gra	12	2	18	5	22	5	22	4
37	Wilh	6	0	15	1	15	0	13	0
38	Yah	22	3	25	4	18	4	27	3

39	Ple	10	2	23	2	19	2	—	—
40	Gol	8	1	—	—	—	—	—	—
41	Thi	10	3	10	2	10	1	10	2
42	Ols	14	2	18	2	14	1	15	2
43	Arn	—	—	20	2	15	1	—	—
44	Ost	21	2	20	1	21	0	22	2
45	Hei	24	0	25	3	—	—	23	2
46	Rei	18	1	22	3	24	2	17	2
47	Gra	19	1	21	2	24	1	12	2
48	Mey	19	2	18	1	19	2	19	2
49	Hof	14	2	20	2	19	2	22	3
50	Schz	7	0	10	1	11	2	7	1
51	Rei	6	1	8	2	—	—	6	1
52	Edi	11	1	17	1	—	—	12	2
53	Weh	21	2	24	2	17	1	24	4
54	Wog	14	0	17	0	19	2	14	2
55	Blu	11	2	12	0	13	1	—	—
56	Poh	18	1	—	—	—	—	18	2
57	Ort	19	2	17	1	27	2	20	2
58	Col	—	—	23	2	21	2	17	1
59	Ric	—	—	—	—	24	4	18	3
60	Ren	—	—	—	—	14	1	—	—
61	Opi	—	—	—	—	18	2	—	—
62	Reil	—	—	—	—	18	0	15	2
63	Gra	31	1	33	3	27	2	26	3
64	Fri	20	0	19	1	17	2	—	—
65	Kop	17	0	—	—	16	1	—	—
66	Sch	21	1	16	2	21	3	16	2
67	Sei	10	1	9	0	11	3	10	2
68	Abr	20	2	—	—	—	—	18	2
69	Sar	13	0	—	—	22	2	19	3
70	Kel	35	2	34	2	36	4	30	3
71	Tes	19	2	23	2	25	3	18	1
72	Feu	12	2	21	3	15	3	19	3
73	Hei	—	—	—	—	24	2	—	—
74	Eri	11	0	13	2	13	2	9	1
75	Kav	23	3	23	3	28	4	27	1
76	Dre	24	2	28	1	33	2	27	2
77	Mir	13	2	19	3	14	2	13	0
78	Schs	36	2	30	0	—	—	32	2
79	Mat	14	1	112	2	21	2	18	3
80	Bül	15	3	18	2	20	3	15	1
81	Egg	12	2	17	1	12	1	14	1
82	Sche	14	3	13	2	14	2	14	1
83	Kra	18	2	23	1	22	2	24	3

84	Now	19	2	14	1	17	1	15	3
85	Sac	23	3	16	2	20	2	22	3
86	Tat	14	1	14	1	13	0	12	1
87	Rüg	—	—	15	1	14	2	14	2
88	Jas	20	4	—	—	18	2	18	4
89	Zuc	18	2	—	—	24	3	—	—
90	Schr	22	4	20	3	25	2	22	3
91	Schw	25	5	22	3	21	2	26	3
92	Sal	24	3	37	5	33	5	26	2
93	Kra	37	4	29	3	37	3	26	4
94	Gro	11	3	14	3	14	2	14	1
95	Mün	32	3	19	2	23	2	21	3
96	Nit	28	3	29	4	31	5	25	3
97	Lew	36	4	30	3	31	3	32	3
98	Schö	23	3	19	3	26	4	25	5
99	Koc	29	2	24	1	23	1	23	1
100	Bog	23	3	21	0	21	1	19	0
101	Qua	20	2	17	0	15	2	17	3
102	Tas	18	2	17	2	17	2	13	1
103	Fre	30	2	24	1	21	1	25	1
104	Mak	11	2	9	0	8	2	8	0
105	Tut	20	1	23	1	25	1	18	3
106	Zad	13	0	11	0	11	1	15	0
107	Jer	14	0	15	0	16	1	13	3
108	Dan	13	3	14	2	12	2	12	2
109	Ste	16	1	17	2	16	2	17	3
110	Kuh	15	1	18	1	21	1	13	0
111	Schi	17	2	20	1	18	2	10	1
112	Hor	7	2	8	2	8	1	11	1
113	Hüb	18	3	16	2	17	1	17	2
114	Hol	36	5	36	5	41	6	35	6
115	Hab	41	6	37	4	32	5	33	4
116	Ree	7	2	7	1	10	1	11	1
117	Wol	26	2	30	2	27	2	26	1
118	Zen	23	2	28	3	31	2	24	2
119	Rös	29	2	31	3	36	4	45	5
120	Tuc	16	1	18	2	18	3	17	3
121	Szy	27	4	16	4	13	4	15	3
122	Man	19	3	14	3	17	2	19	4
123	Str	19	0	25	1	22	2	14	0
124	Fen	17	0	21	1	26	2	15	0
125	Kus	14	4	28	5	30	2	21	2
126	Oeh	10	2	13	3	13	1	14	2
127	Gep	18	1	16	2	26	2	21	1
128	Sch	11	0	12	1	11	1	11	2

129	Vor	14	2	17	3	24	2	15	2
130	Kos	14	2	17	2	14	2	24	1
131	Zwi	13	3	16	3	14	2	18	3
132	Voi	13	3	12	2	13	2	15	3
133	Win	11	2	9	1	10	2	9	1
134	Boe	19	3	13	3	12	2	14	2
135	Buj	16	5	13	5	19	4	16	6
136	Geh	25	4	22	2	21	2	17	3
137	Her	18	1	15	2	14	2	24	3
138	Hil	16	0	15	3	18	0	11	0
139	Ket	21	5	14	0	13	1	15	2
140	Kir	22	2	15	3	14	2	16	2
141	Köp	16	3	10	1	11	0	13	3
142	Loh	26	3	25	4	27	0	23	3
143	Dau	12	1	23	3	16	2	22	3
144	Frö	20	0	18	2	25	4	23	2
145	Lod	11	1	10	0	8	2	10	2
146	Rei	18	6	24	5	24	3	19	8
147	Ros	30	5	22	3	19	3	18	4
148	Sch	21	1	18	2	28	3	18	2
149	Ros	—	—	7	1	10	2	8	2
150	Totz	—	—	7	1	9	2	—	—
151	Kie	11	4	—	—	18	3	13	1
152	Mit	38	5	—	—	42	4	33	4
153	Pen	18	3	19	4	21	4	14	2
154	Szo	28	1	17	2	20	3	20	2
155	Kat	11	3	10	3	11	4	11	3
156	Maj	8	1	9	1	9	2	9	3
157	Sae	9	2	11	3	—	—	—	—
158	Sch	18	2	19	3	21	3	28	3
159	Man	21	4	16	1	16	2	19	2
160	Ber	10	0	15	2	12	1	16	0
Monocyten		2174	242	2033	273	2614	260	2250	271
% + und —		90	10	88,6	11,8	91	9	89,4	10,6

Tabelle III.

Oxydasereaktion der Monocyten bei verschiedenen Methoden.

Nr.	Name	Methode: Winkler-Schultze		Schilling-Schlenner		Epstein		Bryce	
		+	—	+	—	+	—	+	—
1	Ma	8	1	5	4	9	2	6	2
2	Ka	11	3	4	7	11	4	15	2
3	Kn	23	3	19	5	28	4	22	4
4	Er	11	0	5	6	13	2	8	1
5	Je	14	0	11	4	16	1	17	2
6	Za	13	0	9	2	11	1	10	0
7	Ha	41	6	16	18	32	5	35	4
8	Ho	36	5	29	15	41	6	35	6
9	Gr	11	3	12	3	14	2	15	2
10	Mü	32	3	23	7	23	2	27	3
Monocyten		200	24	113	71	198	29	190	26
% + u. —		89,3	10,7	65,2	34,8	87,3	12,7	88,0	12,0

Tabelle IV.

Die Oxydasereaktion der Monocyten bei Gesunden.

Nr.	Name	Methode: Winkler-Schultze		Graham		Epstein		Kupfer	
		+	—	+	—	+	—	+	—
2	He	24	1	22	1	17	1	23	0
1	Sa	12	1	14	0	10	0	12	0
3	Kav	23	3	23	3	28	4	27	1
4	Sz	28	1	17	2	20	3	20	2
5	Be	17	1	18	2	14	0	17	0
6	Pe	18	3	19	4	21	4	14	2
7	Kat	11	3	10	3	11	4	11	3
8	Sch	12	2	10	1	12	0	9	2
9	We	15	3	17	0	17	1	14	3
10	Ma	8	1	9	1	9	2	9	3
Monocyten		168	19	159	17	159	19	156	16
% + u. —		89,9	10,1	90,4	9,6	89,4	10,6	90,7	9,3

Tabelle V.

Die Oxydasereaktion bei der Lungentuberkulose.

Nr.	Name	Winkler-Schultze		Reaktion der Monocyten Graham		Epstein		Kupfer	
		+	—	+	—	+	—	+	—
1	Oe	10	2	13	3	13	1	14	2
2	Ku	14	4	28	5	30	2	21	2
3	Fe	17	0	21	1	26	2	15	0
4	St	19	0	25	1	22	2	14	0
5	Ma	19	3	14	3	17	2	19	4
6	Sz	27	4	16	4	13	4	15	3
7	Je	14	0	15	0	16	1	13	3
8	Za	13	0	11	0	11	1	15	0
9	Tu	20	1	23	1	25	1	18	3
10	Ma	11	2	9	0	8	2	8	0
11	Fr	30	2	24	1	21	1	25	1
12	Ta	18	2	17	2	17	2	13	1
13	Qu	20	2	17	0	15	2	17	3
14	Bo	23	3	21	0	21	1	19	0
15	Ko	29	2	24	1	23	1	23	1
16	Tu	16	1	18	2	18	3	17	3
17	Rö	29	2	31	3	36	4	45	5
18	Ze	23	2	28	3	31	2	24	2
19	Wo	26	2	30	2	27	2	26	1
20	Re	7	2	7	1	10	1	11	1
21	Ha	41	6	37	4	32	5	33	4
22	Ho	36	5	36	5	41	6	35	6
23	Hü	18	3	16	2	17	1	17	2
24	Hor	7	2	8	2	8	1	11	2
25	Sch	22	4	20	3	25	2	22	3
26	Sc	25	5	22	3	21	2	26	3
27	Sa	24	3	37	5	33	5	26	2
28	Kr	37	4	29	3	37	3	26	4
29	Gr	11	3	14	3	14	2	14	1
30	Mü	32	3	19	2	23	2	21	3
31	Ni	28	3	29	4	31	5	25	3
32	Le	36	4	30	3	31	3	32	3
33	Scf	23	3	19	3	26	4	25	5
Monocyten % + u. —		89,8	10,2	91,5	9,5	91,7	9,3	90,0	10,0

Literatur.

Bloch und **Peck,** Der Nachweis der Oxydase in den Zellen des myeloischen Systems durch 3,4-Dioxyphenylalanin. Fol. Hämat., 1930, Bd. 41.

Bryce, A. T., Notes on a combined peroxidase Wright's stain for blood films. Stain. Tech., 5, 1930.

Dunn, J. S., The Oxydase reaction in myeloid tissues. Jour. of Path. and Bact., 1910, Vol. 15.

— The use of the oxydase reaction in the differentiation of acute leukaemias. The Quart. Jour. of Med., 1913, Vol. 6.

Ehrlich, P., Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin, 1885.

Epstein, H., Beitrag zur Methodik der Oxydasefärbung. Centralbl. f. Bakt., Abt. I., 1927, Bd. 103.

Fiessinger et Roudowska, Reactions microchimiques des leucocytes avec la benzidine. Soc. de biol., seance du 6 juillet 1912, Compt. rendus, t. LXXII.

Fischel, Der histochemische Nachweis der Peroxydase. Wien. klin. Wschr., 1910, Nr. 44.

Freifeld und **Ginsburg,** Herkunft der Oxydasereaktion in Monocyten bei Vögeln. Arch. exper. Zellforschg., 1929, Bd. 7.

Graeff, S., Herstellung von Dauerpräparaten bei Anwendung der Naphtholblau-Oxydasereaktion. Centralbl. f. allg. Path., 1916, Bd. 27.

— Intracelluläre Oxydation und Nadireaktion (Indophenolblausynthese). Zieglers Beitr., 1922, Bd. 70.

v. Gierke, Herstellung von Dauerpräparaten mit Oxydasereaktion. Centralbl. f. allg. Path., 1916, Bd. 27.

Graham, Peroxydasereaction. Jour. of Med. Research, 1918, Vol. 39 und New York State Jour. of Med., 1920.

Goldmann, J., Oxydase der Leukocyten und deren Widerstandsfähigkeit in verschiedenen Leukocytenarten. Zurnal eksper. biolog. i. med., 1928, Bd. 9.

Hatiegan, J., Die klinische Bedeutung der Winkler-Schultze-Oxydasereaktion. Wien. klin. Wschr., 1917, Nr. 26.

Hirschfeld, H., Zur makroskopischen Diagnose der Leukocytose und der Leukämie im Blute. Dtsch. med. Wschr., 1917, Nr. 26.

— Erfahrung mit der Oxydase- und Peroxydasereaktion. Med. Klin., 1924, Nr. 8.

Jagic, N., Ueber die Monocyten. Wien. klin. Wschr., 1917.

Jagic und **Spengler,** Klinik und Therapie der Blutkrankheiten. Wien, 1928.

Katsunuma, S., Intracelluläre Oxydation und Indophenolblausynthese. Jena, 1924.

— Genese der Blutplättchen im Lichte der Oxydasereaktion. Fol. Hämat., 1926, Bd. 32.

Kreibich, Leukocytendarstellung im Gewebe durch Adrenalin. Wien. klin. Wschr., 1910, Nr. 41.

Lison, Sur les nouveaux reactifs des peroxydases. C. r. Soc. Biol., Paris, 1931, 106.

Marchesini, La reazione del Winkler-Schultze in rapporto alla diagnosi ematologico et alla prognosi nelle mallattie infettive. La Clinica med. ital., 1910, Nr. 12.

May, Einige vergleichende Untersuchungen über das Verhalten der Oxydasereaktion im Blute verschiedener Wirbeltierklassen. Virch. Arch., Bd. 257.

McJunkin, F. A., The large mononuclear and the transitional leukocyte. Jour. lab. and clin. Med., 1926, Vol. 12 und Proc. Soc. exper. Biol. and Med., 1928, Vol. 26.

Naegeli, Lehrbuch der Blutkrankheiten. Berlin, 1932.

Nesterow, W. S., Zur Frage der Lipoid- und Oxydasekörnelung in den Leukocyten des peripheren Blutes. Zeitschr. f. exper. Med., 1930, Bd. 72.

Neumann, Zur Oxydasenatur der Leukocytengranula. Fol. Hämat., 1926, Bd. 32.

Nyfeldt, A., Klinische und experimentelle Untersuchungen über die Mononucleosis infectiosa. Fol. Hämat., 1932, Bd. 47.

Roelofs, (Blochs Dopareaktion, eine Modifikation). Nederl. Tydschr. Geneesk., 1930, II.

Rosenthal, Studies on the oxidase reaction of the cells. Arch. of int. Med., 1920, Vol. 20.

Sato and **Yoshimatsu,** The „Striate Blood-picture". Tohoku Jour. exper. Med., 1930, Vol. 16.

Schilling, V., Das Blutbild und seine klinische Verwertung. Jena, 1928.

Schlenner, F., Ueber Technik der Oxydasereaktion und ihr Verhalten an Monocyten. Dtsch. med. Wschr., 1921, Nr. 1.

Schultze, W. H., Zur Technik der Oxydasereaktion (Indophenolblausynthese). Centralbl. f. allg. Path., 1917, Bd. 28.

Shoji, Differenzierung der Leukocyten des Tierblutes in der Zählkammer. Tohoku Jour. exper. Med., 1928, Vol. 10.

Stockinger, W., Zellbilder und Zellformen des Blutes. Zeitschr. f. d. gesamt. exper. Med., 1930, Bd. 65 und 70.

Strasmann, R., Beitrag zur Technik der Oxydasereaktion an Gewebsschnitten. Centralbl. f. allg. u. path. Anat., 1909, Bd. 20.

Strumia, M., A modification of the peroxydase reaction with sodium nitroprussid and benzidin. Arch. of Path., 1928, Nr. 5.

Suzuki, K., Die zeitliche Verwendbarkeit der Oxydasereagentien. Tohoku Jour. exper. Med., 1928, Vol. 11.

Tokue, Die Mastzellen des Blutes und ihre Oxydase- und Peroxydasereaktion. Tohoku Jour. exper. Med., 1929, Vol. 12.

Wallbach, G., Untersuchungen über eine Entstehung der Oxydasegranulation. Fol. Hämat., 1931, Bd. 43.

Washburn, Combined peroxydase reaction and Wright's stain. Jour. lab. and clin. Med., 1928, Nr. 14.

Winkler, F., Der Nachweis von Oxydasen in den Leukocyten mittels der Dimethyl-p-Phenylendiamin-Reaktion. Fol. Hämat., 1907, Bd. 3.

Wollenberg, H. W., Historische Entwicklung der Monozytenfrage. Ergebnisse d. inn. Med., 1925, Bd. 28.

Lebenslauf.

Ich, Harry Adams, beheimatet in Panama (Amerika), bin dort am 15. Februar 1894 geboren. Habe privat studiert bis zu meiner Immatrikulation im Jahre 1916 in den Harvard College, Cambridge, Mass., wo ich den Bakkalaurens, Klasse 1919, erwarb. Später war ich im Staatsdienst tätig und kam nachher wieder in die Harvard-Universität, wo ich bis 1926 blieb. Gelegentlich machte ich Forschungsreisen in verschiedenen Weltteilen, einschließlich Afrika und Asien. Im Jahre 1926 wurde ich an der Universität Berlin immatrikuliert und habe das Physikum hier bestanden. Im Sommer 1928 studierte ich an der Universität in Heidelberg. Nachher habe ich mein Studium in Berlin fortgesetzt, wo ich die Staatsprüfung im August 1931 ablegte. Seit der Staatsprüfung bin ich immer an dem Institut für Krebsforschung der Universität Berlin tätig gewesen.